Zur

Kenntnis des sogenannten Gallisins im technischen Stärkezucker.

Josef Gatterbauer.

Zur

Kenntnis des sogenannten Gallisins im technischen Stärkezucker.

Von der

Kgl. Technischen Hochschule zu München

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften

(Doktor-Ingenieurs)

genehmigte Dissertation.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Vorgelegt von

Diplom-Ingenieur **Josef Gatterbauer**
aus Passau.

Referent:
Prof. Dr. C. J. Lintner.

Korreferent:
Prof. Dr. A. Lipp.

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Dezember 1910.

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin.
1911.

Vorliegende Arbeit wurde im gärungschemischen Laboratorium der Kgl. Technischen Hochschule zu München ausgeführt.

Meinem hochverehrten Chef und Lehrer, Herrn Professor Dr. C. J. Lintner, auf dessen Anregung die vorliegende Arbeit entstand, spreche ich für seine stets bereitwillige Unterstützung meinen ergebensten Dank aus.

Druck der Königl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A. G., Würzburg.

Der käufliche Stärkezucker diente bekanntlich lange Zeit zum Gallisieren des Weines. Als in den 70-er und 80-er Jahren Ansichten auftauchten, welche die Gesundheitsschädlichkeit des Kartoffelzuckers bezw. seines unvergärbaren Bestandteiles betonten, fing die Wissenschaft an, sich eingehend mit der unvergärbaren Substanz im käuflichen Stärkezucker zu befassen. Schmitt und Cobenzl[1]) brachten zuerst gründliche Aufschlüsse über die Zusammensetzung des im technischen Stärkezucker enthaltenen unvergärbaren Anteiles. Sie gaben Vorschriften zu seiner Gewinnung und betrachteten dann den unvergärbaren Teil als eine neue Verbindung, der sie den Namen Gallisin beilegten. Nach ihrer Ansicht kommt dem Gallisin als chemischem Individuum die empirische Formel $C_{12}H_{24}O_{10}$ zu, deren Wahrscheinlichkeit durch Analysen und durch die Darstellung von Derivaten gestützt wurde. Schmitt und Rosenheck[2]), welche vorläufig noch an der zuerst ermittelten Zusammensetzung festhielten, glaubten das Gallisin hinter die Dextrine stellen zu müssen, der Glykose näher als der Stärke, da man in der Praxis bei der Herstellung des Stärkezuckers so weit gehe, bis weder Stärke (Jodreaktion) noch Dextrin (Alkoholfällung) vorhanden sei. Wohl[3]), der sich eingehend mit der Inversion und Reversion der Zuckerarten durch Säuren beschäftigte, wies bei der Behandlung der Verzuckerung der Stärke darauf hin, daß die Verminderung des Reduktionsvermögens nicht durch die Zerstörung von gebildeter Glykose, sondern durch die Umwandlung von solcher in dextrinartige Produkte zu erklären sei. Er empfahl, die durch Reversion entstandenen dextrinartigen Kondensationsprodukte, die mit den eigentlichen Zwischenprodukten der hydrolytischen Spaltung (Dextrinen) kaum identisch sein dürften, mit kurzen Namen zu bezeichnen, die sowohl die dextrinähnliche Natur als auch die Abstammung von den einzelnen Monosen kennzeichnen sollten. Er sprach daher von dem Reversionsprodukt der Glykose als von Glykosin. Nachdem die Befunde von Schmitt und Cobenzl in Zweifel gezogen worden waren, erschienen zahlreiche Abhandlungen,

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1884, **17**, 1000.
[2]) Daselbst 1884, **17**, 2456.
[3]) Daselbst 1890, **23**, 2084.

welche sich mit dem Gallisin befaßten, verschiedene Ansichten vertraten, schließlich aber nicht zur vollständigen Klärung der Verhältnisse führten. Scheibler und Mittelmeier[1]) stellten fest, daß der Stärkezucker des Handels neben Glykose in geringer Menge einen dextrinartigen Körper enthalte, der durch Vergärung der Glykose von dieser getrennt werden könne. Aus diesem unvergärbaren Bestandteil konnten sie mit essigsaurem Phenylhydrazin ein Osazon erhalten, durch dessen Analyse das Vorhandensein eines Zuckers von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ nachgewiesen wurde. Sie nahmen an, daß dieses Isomere der Maltose aus der Stärkecellulose entstehe. In einer späteren Veröffentlichung kamen Scheibler und Mittelmeier[2]) auf Grund ihrer Versuche zu der Anschauung, daß die Bildung des Gallisins auf eine weitere Einwirkung der Säure auf die durch Hydrolyse der Stärke gebildete Glykose zurückzuführen sei. Sie fanden, daß der Schmelzpunkt und die Löslichkeitsverhältnisse des aus dem Gallisin und der Glykose erhaltenen Osazons eines Disaccharides mit dem Fischer'schen Isomaltosazon übereinstimmten. Dieses führte sie zu der Ansicht, daß das Gallisin mit der Isomaltose dieses Forschers identisch wäre. Bornträger[3]), Mader[4]) und Ost[5]) vertreten übereinstimmend die Ansicht, daß das Gallisin jedenfalls kein einheitlicher Körper ist. Bornträger erklärte das Gallisin im Gegensatz zu Schmitt, Cobenzl und Rosenheck für ein Gemisch dextrinartiger Körper und auch Mader spricht von unvergärbaren Stärkedextrinen. Ost vertritt die Anschauung, daß das Gallisin des Stärkezuckers im wesentlichen aus dem Glykosin — einem synthetischen Dextrin, entstanden durch Einwirkung von rauchender Salzsäure (spez. Gew. = 1,17) auf Glykose — bestehe und endlich als chemisches Individuum gestrichen werden müßte.

Im Zusammenhang mit dem Gallisin darf wohl erwähnt werden, daß Vogel[6]) und Dierssen[7]) annehmen, daß die von Sieben[8]) und anderen Forschern im Stärkezuckersirup aufgefundene „Maltose“ in Wirklichkeit ganz oder teilweise Isomaltose war.

Hier angelangt, wäre dann auf das heiß umstrittene Gebiet der Isomaltose überzugehen, deren Behandlung aber als über den Rahmen der vorliegenden Arbeit weit hinausgehend, fallen gelassen werden kann. Ergänzend sei nur auf die Entstehung der Isomaltose nach Fischer[9]) durch Einwirkung von rauchender Salzsäure auf Glykose hingewiesen. Eine große Anzahl von Arbeiten beziehen sich auf die Bildung der Isomaltose durch diastatischen Abbau der Stärke; diese scheiden ohne weiteres aus der Betrachtung aus, da es sich hier eben nur um die Produkte der Einwirkung von Säuren auf die Stärke handelt.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war, weitere Beiträge zur Klärung der Gallisinfrage zu liefern. Der Gang, welcher bei der Ausführung der Untersuchungen eingehalten wurde, war folgender:

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1890, **23**, 3075.
[2]) Daselbst 1891, **24**, 301.
[3]) Chem. Zentralbl. 1887, 219.
[4]) Chem. Zentralbl. 1890, II, 233.
[5]) Chem.-Ztg. 1895, **19**, 1507.
[6]) Chem.-Ztg. 1895, **19**, 451.
[7]) Zeitschr. angew. Chem. 1903, 122.
[8]) Zeitschr. d. Vereins d. Deutsch. Zuckerind. 1895, **34**, 837.
[9]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1890, **23**, 3687.

Nach der Analyse des als Ausgangsprodukt dienenden käuflichen Stärkezuckers wurde das Gallisin nach Entfernung der Glykose durch Gärung gewonnen, untersucht und durch Derivate näher zu charakterisieren versucht.

Die Analyse des als Ausgangsmaterial dienenden technischen Stärkezuckers ergab folgende Werte:

Trockensubstanz, aus dem spez. Gewichte einer 10 %-igen Lösung berechnet,	81,52 %
Reduzierender Zucker (nach Wein)	67,20 „
Spezifisches Drehungsvermögen der 10 %-igen Lösung	+66,54°
Unvergärbarer Anteil	24,53 %
Asche (Calciumsulfat und Spuren von Kupfer)	0,23 „

A. Gewinnung und Untersuchung des unvergärbaren Anteils, des sog. Gallisins.

I. Erster Gärversuch.

Zur Herstellung des Gallisins wurde der von Schmitt und Co benzl[1]) an gegebene Weg eingeschlagen:

Je 3 kg käuflicher Stärkezucker wurden in je 15 l Brunnenwasser gelöst und die Flüssigkeit mit insgesamt 1 kg Bierpreßhefe 3 Tage bei 18—20° vergoren. Beide Proben, die zu Beginn der Gärung eine Saccharometeranzeige von 13,6° besaßen, zeigten nach 3 Tagen eine solche von 1,4°. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Gärung unterbrochen, die vergorene Lösung filtriert und zuerst auf freiem Feuer in Emailletöpfen, zuletzt in einer Nickelschale auf dem Wasserbade bis auf ungefähr 1200 ccm (Konzentration 37° Bé.) eingedampft. Dieser Abdampfrückstand war eine dunkelbraune, dickliche Flüssigkeit von bitterem Geschmack, welche nun noch heiß (66°) zur Entfernung von unvergorenem Stärkezucker und von organischen Säuren fünfmal mit je 1 l heißen (66°) 96%-igem Alkohol geschüttelt wurde. Sirup und Alkohol wurden dabei getrennt auf diese Temperatur gebracht. An diese Behandlung schloß sich noch ein zweimaliges Ausziehen mit je 1 l Alkohol am Rückflußkühler. Der zu den Auszügen verwendete Alkohol nahm eine braune Färbung an; er lieferte als Abdampfrückstand einen braunen Sirup (B), der für sich untersucht wurde.

Zur weiteren Reinigung wurde der Sirup in einem großen Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt.

Die Substanz, welche nach dem Verdampfen des Äthers zurückblieb, war Bernsteinsäure im Gemisch mit Furfurolsubstanzen. Diese konnten mit Äther weggenommen und durch die Rotfärbung mit Anilin-Essigsäure als solche erkannt werden; ebenso war ihr bitterer Geschmack charakteristisch. Die als Bernsteinsäure angesprochene Substanz reagierte in wässeriger Lösung stark sauer, krystallisierte und verbreitete beim Verbrennen einen erstickenden Geruch.

Es wurde nun versucht, den so gereinigten Sirup nach Möglichkeit zu entfärben, was aber nur unvollkommen gelang. Durch zweimaliges langandauerndes Kochen mit Tierkohle auf dem Wasserbad wurde nach dem Filtrieren durch einen Heißwassertrichter eine immer noch stark gelbbraun gefärbte Lösung erhalten. Jetzt wurde mit Bleiessig gefällt, filtriert, das Blei in der Wärme mit Schwefelwasserstoff

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1884, **17**, 1000.

abgeschieden, auf dem Wasserbade bis zur Hälfte des Volumens und dann im Vakuum bis zum Sirup (Hauptsirup A) eingedampft.

Die Analyse dieses Hauptsirups A (10 g in Wasser gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt) lieferte folgende Ergebnisse:

Trockensubstanz	7,45 g in 100 ccm
Spezifisches Drehungsvermögen $[\alpha]_D$	$+91{,}27^0$
Reduktionsvermögen, als Glykose berechnet,	38,44 %

Zwecks quantitativer Gärungsversuche wurden je 10 g des Sirups in 100 ccm Wasser gelöst und mit 5 g Hefe zur Gärung angestellt; die Gärdauer war drei Tage. Die vergorene Flüssigkeit besaß folgende Konstanten:

Scheinbarer Extrakt	2,82 g in 100 ccm
Reduktionsvermögen	37,84 %
Spezifisches Drehungsvermögen $[\alpha]_D$	$+85{,}20^0$

Die Analyse des aus den alkoholischen Auszügen erhaltenen Sirups B, der nach dem Verdampfen der zum Ausziehen des unvergärbaren Anteils verwendeten Alkoholmengen als brauner, glasiger, in der Kälte strengflüssiger etwas hygroskopischer Sirup zurückblieb, ergab:

Trockensubstanz	37,31 g in 100 ccm
Reduktionsvermögen	27,15 %
Spezifisches Drehungsvermögen $[\alpha]_D$	$+51{,}85^0$

Verhalten der Sirupe A und B gegen Phenylhydrazin.

Die beiden Sirupe, der Hauptsirup A und der durch Ausziehen desselben mit Alkohol erhaltene Sirup B wurden auf ihr Verhalten gegen Phenylhydrazin untersucht.

a) Darstellung von Osazonen aus dem Hauptsirup A.

30 g des Sirups wurden in 300 ccm Wasser gelöst und nach Zusatz von 13 g Phenylhydrazin und 13 g 50 %-iger Essigsäure 1 Stunde im kochenden Wasserbade gehalten; die Lösung färbte sich rotbraun, blieb aber klar. Der Sirup enthielt 7,45 g Trockensubstanz in 100 ccm; auf 10 g Trockensubstanz sollten 6 g Phenylhydrazin und 6 g (besser mehr, vielleicht 10 g) 50 %-iger Essigsäure treffen.

Beim Erkalten schied sich eine erhebliche Menge eines dunkelgelb gefärbten Osazons ab, das durch dreimaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser gereinigt, auf Ton getrocknet und dann im Vakuumtrockenschrank (nach Soxhlet) vollkommen wasserfrei gemacht wurde.

Das dunkelgelbe Pulver schmolz bei 110—112° und zersetzte sich bei 120° unter Aufschäumen. Es lag die Annahme nahe, daß es sich um kein einheitliches Produkt, sondern um ein Gemisch von verschiedenen Osazonen handle.

Das Osazon war in gleichen Teilen Aceton und Wasser (kalt) sehr leicht löslich, in Aceton sehr leicht löslich — ausscheidbar auf Zusatz von Wasser — in Benzol zum größten Teil löslich; der Rückstand war nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Äther in Aceton nur mehr zum Teil löslich. Selbst beim Kochen mit Aceton blieb ein Teil ungelöst.

Auf dieses merkwürdige Verhalten könnte sich eine Trennung in drei Bestandteile gründen: a) Benzollösung + Waschäther; b) Acetonlösung unter Erhitzen; c) in Aceton unlöslicher Anteil.

Der feingepulverte Osazonniederschlag wurde am Rückflußkühler auf dem Sandbade fünfmal mit Benzol ausgekocht und die Flüssigkeiten vereinigt; zurück blieb ein dunkelgelbes Osazongemisch, das gut mit Äther ausgewaschen wurde. Die Waschflüssigkeit wurde zur Benzollösung gegeben. Der nach der Behandlung mit Benzol zurückgebliebene Teil zeigte nach dem Trocknen einen Schmelzpunkt von 142°.

Aus der Benzollösung schied sich beim Erkalten eine sehr geringe Menge eines gelben Osazons ab, das den Schmelzpunkt 205° zeigte und als Glykosazon angesprochen werden durfte.

Die Benzol- und Ätherlösung gab nach dem Verdampfen ein schmieriges Produkt.

Das Osazon vom Schmelzpunkt 142° wurde nun weiter durch Auskochen mit Aceton gereinigt; dies geschah mehrmals, wobei der größte Teil in Lösung ging. Zurück blieb ein gelblichgrünes Osazon, welches aus Wasser umkrystallisiert wurde. Dieser Körper, der gallertartig aussah, zeigte unter dem Mikroskope neben vereinzelten Nädelchen kugelige Gebilde. Durch Behandeln mit Wasser in der Hitze konnte noch ein darin leichter lösliches Osazon abgetrennt werden, das hellgelb war und bei 160° glatt schmolz — aus der heißen wässerigen Lösung schied es sich beim Erkalten aus.

Der in heißem Wasser schwer- bis unlösliche Teil bestand aus einem gelben Osazon (bezw. Osazon-Gemisch), das bei 160° teilweise, bei 178—180° vollkommen schmolz.

Aus der Lösung in Aceton schied sich auf Zusatz von Wasser ein dunkelgelb gefärbter Körper ab, der unter dem Mikroskop neben einigen wenigen Nadeln kugelige Gebilde zeigte, die aber von den erst erwähnten ganz verschieden waren. Die Substanz war nach dem Trocknen tief orangegelb, schmolz bei 112° (wie das ungereinigte Ausgangsprodukt) und zersetzte sich bei 133° unter Aufschäumen.

Eine vollständige Trennung gelang also, wie aus dem Angeführten ersichtlich ist, nicht.

b) Darstellung von Osazonen aus dem Sirup B.

Zur Darstellung der Osazone wurde die Lösung des vorher möglichst entwässerten Sirups verwendet. Diese Lösung enthielt 74,62% Trockensubstanz. Die von der Hefe herrührenden Verunreinigungen wurden mit Bleiessig gefällt und das überschüssige Blei mit Natriumsulfat entfernt.

In der Hitze trat aus der mit Phenylhydrazin versetzten, tief dunkelbraun gefärbten Lösung keine Ausscheidung ein. Beim Erkaltenlassen erfolgte eine kräftige, gelbe, flockige Fällung, welche auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen wurde. Das Filtrat bildete zuerst eine dunkelbraune Lösung, aus welcher das Waschwasser wieder eine Menge eines flockigen Niederschlages ausschied. Der auf dem Filter befindliche Niederschlag wurde durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser gereinigt. Beim ersten Umkrystallisieren blieb ein in heißem Wasser unlöslicher Teil zurück, der für sich durch einmaliges Umkrystallisieren aus heißem, verdünntem Alkohol gereinigt wurde. Nach dem Trocknen im Vakuumtrockenschranke bei 80° wurde eine gelbe Substanz erhalten, die bei 210° schmolz; es war also dem Niederschlag eine geringe Menge Glykosazon beigemischt.

Aus der durch Auswaschen dieses eben behandelten Niederschlages mit heißem Wasser erhaltenen gelben Lösung fiel beim Abkühlen ein sehr hellgelb gefärbter

Körper aus, welcher durch zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser gereinigt wurde. Unter dem Mikroskope zeigte der voluminöse Niederschlag sternförmige Krystalle. Nach dem Trocknen bildete er ein Häutchen, das im Achatreibschälchen zu einem Pulver zerrieben werden konnte, welches bei 120° schmolz und sich bei 140° unter Aufschäumen zersetzte.

Der zuerst erhaltene Osazonniederschlag wurde dreimal auf folgende Weise aus heißem Wasser umkrystallisiert:

Der gut gewaschene Niederschlag wurde in ein kleines Bechergläschen gespült und bis zur Lösung auf einem Drahtnetze erhitzt; diese Lösung wurde nun möglichst rasch durch ein Filter gegossen, um sich ausscheidende, dunkel gefärbte Substanzen zurückzuhalten, und mit heißem Wasser etwas nachgewaschen. Aus der so erhaltenen gelben Lösung schied sich beim Abkühlen ein flockiger Niederschlag von dottergelber Farbe ab, der unter dem Mikroskop sternartige Gebilde zeigte. Diese Behandlung wurde noch zweimal wiederholt und das Produkt gut getrocknet. Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes trat bei 120° ein Sintern ein und bei 170° schmolz die Substanz.

Daraus war zu schließen, daß ein Gemisch von einem niedriger und einem höher schmelzenden Osazon vorlag. Es wurde versucht, durch Behandlung mit Aceton in der Hitze eine Trennung herbeizuführen. Das Gemisch wurde daher einigemal mit Aceton ausgekocht; als Rückstand blieb ein hellgelb gefärbter Körper, der bei 170—172° schmolz und vielleicht unreines Maltosazon war.

Die Acetonauszüge wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuumexsiccator verdampft. Der übrigbleibende glänzende, feste dunkelgelbe Körper wurde dreimal aus heißem Wasser gereinigt. Bei dem ersten Umkrystallisieren blieb eine geringe Menge eines gelben Osazons übrig, das bei 190° schmolz und Glykosazon war. Die umkrystallisierte Hauptmenge war nach dem Trocknen ein dunkelgelber Körper vom Schmelzpunkt 120°.

Aus dem am Anfang erhaltenen dunkelrotbraunen Filtrate schied sich noch nach längerem Stehen eine größere Menge Osazon ab, welche wie oben gereinigt und untersucht wurde. Durch das Umkrystallisieren aus heißem Wasser ergaben sich diesmal Osazone, die nicht mehr dottergelb, sondern dunkler gefärbt waren. Die Substanz war also nicht mehr so rein als die zuerst erhaltene.

Auffallend war bei der Untersuchung der beiden Sirupe das Auftreten eines bei 120° (auch 112°) schmelzenden Osazons, das sich bei etwa 140° unter Aufschäumen zersetzte.

Auf die Wiederkehr eines solchen Osazons bei der Untersuchung des Gallisins und des oftmals vergorenen Hauptsirups sei an dieser Stelle hingewiesen.

Versuche, welche das Ziel verfolgten, Naphthylhydrazinverbindungen der Zuckerarten der beiden Sirupe zu erhalten, schlugen fehl.

Gewinnung des Gallisins aus dem unvergorenen Hauptsirup A.

Nach diesen Untersuchungen konnte dazu übergegangen werden, den unvergärbaren Anteil des Stärkezuckers, das sog. „Gallisin“, im festen Zustande aus dem Reste des Sirups A, ohne daß noch einmal eine Gärung vorgenommen wurde, zu erhalten. Dies geschah unter prinzipieller Einhaltung der von Schmitt und Cobenzl[1]) an-

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1884, 17, 1000.

gegebenen Ausscheidungsmethode durch Wasserentziehung mit Hilfe eines Gemisches von gleichen Teilen absoluten Alkohols und absoluten Äthers. Es zeigte sich dabei, daß die Anwendung von so großen Mengen des Gemisches zur Gewinnung kleiner Mengen Gallisins nicht notwendig ist (auf 1 Tl. Sirup mindestens 50 Tle. des Gemisches); ebenso kann das tropfenweise Zufließenlassen des durch Erwärmen flüssig gemachten Sirups in Wegfall kommen. Am besten verfährt man folgendermaßen:

100 g Sirup werden mit 1 l des Alkohol-Äthergemisches im Filtrierstutzen übergossen und die zähe Masse längere Zeit hindurch mit einem dicken Glasstab an den Wandungen zerrieben; besser ist es, diese langwierige Arbeit in einer großen Porzellanreibschale mit dem Pistill vorzunehmen. Aus dem braungelben Sirup wird so ein weißes, amorphes Pulver erhalten, das von der Lösung abfiltriert und dann mit neuem Gemisch ausgewaschen wird. In einer Krystallisierschale im Exsiccator einige Zeit stehen gelassen, wird das „Gallisin" als weißes Pulver erhalten, das an der Luft nach 24 Stunden zu einer klebrigen Masse wird; im Vakuumtrockenschrank kann es völlig trocken erhalten werden. Zum Aufbewahren von größeren Mengen des Produktes erwies sich ein Präparatenglas mit eingeschliffenem Stöpsel, das in den Exsiccator eingelegt wird, als sehr zweckmäßig.

Die Analyse des Gallisins führte zu folgenden Werten: Durch 4-stündiges Trocknen im Vakuumtrockenschank wurden 92,46 % Trockensubstanz erhalten. Der Aschengehalt betrug 1 %; die Asche war rein weiß und flockig und bestand aus Calciumsulfat, das sich im unvergärbaren Anteil aus dem zur Gärung angestellten Stärkezucker angereichert hatte. Das Reduktionsvermögen (nach Kjeldahl) betrug:

a) mit 30 ccm Fehling'scher Lösung . . . . 38,68 %,
b) „ 50 „ „ „ . . . . 41,01 %.

Diese Abweichung von 2,33 % bei der genauen Methode von Kjeldahl läßt den Schluß zu, daß das Gallisin kein einheitlicher Körper ist.

Das spezifische Drehungsvermögen $[\alpha]_D$ betrug in 10 %-iger Lösung $+ 94{,}63^0$ und in 5 %-iger Lösung $+ 97{,}70^0$.

Schon Schmitt und Cobenzl fanden, daß „das Rotationsvermögen des Gallisins bei Abnahme der Konzentration steigt".

Quantitative Gärungen: Je 25 ccm einer 10 %-igen Lösung wurden mit je 5 g Hefe zur Gärung bei 26° im Gärkölbchen nach Lintner angestellt. Bei einer Gärdauer von 6 Tagen ergab sich eine mittlere Gewichtsabnahme von 0,1275 g CO_2. Der geringe Gewichtsverlust bei der langen Gärdauer weist auf eine durch Bierpreßhefe schwer vergärbare Substanz hin.

Quantitative Bestimmung des Osazons: 1,25 g Gallisin gaben eine Osazonmenge von 0,3216 g. Der Hauptteil des Osazons schied sich beim Erkalten ab, ein geringerer Teil auf Zugabe von Wasser.

Das Osazon, welches nach kurzem Stehen ohne Zusatz von Wasser ausfiel, schmolz nach öfterem Umkrystallisieren aus heißem Wasser bei 112° und zersetzte sich bei 135—140°; es besaß nach dem Trocknen auf Ton im Exiccator eine gelbbraune Farbe. Dasselbe Osazon sinterte, nachdem es durch Trocknen im Vakuumtrockenschranke [1])

[1]) Der neue Vacuumtrockenschrank mit Wasserbad nach Soxhlet leistete zur Trocknung der Osazone, sowie später zur Herstellung von absolut trockenen Analysensubstanzen ausgezeichnete Dienste.

absolut wasserfrei gemacht worden war, bei 120° zusammen und schmolz bei 148—150° unter Aufschäumen.

Nach der Behandlung mit absolutem Alkohol in der Kälte wurde nach dem Verdampfen des letzteren ein bei 120° schmelzendes Osazon erhalten.

Darstellung von Derivaten des Gallisins.

a) Salpetersäureester.

Hierbei wurde nach Will und Lenze[1]) verfahren.

Die Behandlung mit Salpetersäure (Nitrierung) geschah nach der dort angegebenen Vorschrift in der Weise, daß die feingepulverte Substanz in auf 0° abgekühlte konzentrierte Salpetersäure (Spez. Gew. = 1,52) eingetragen und hierauf tropfenweise konzentrierte Schwefelsäure (Spez. Gew. = 1,84) zu der durch Eiswasser gekühlten salpetersauren Lösung zugegeben wurde. Auf 1 g Kohlenhydrat sollten 10 ccm Salpeter- und 20 ccm Schwefelsäure treffen. Das Nitrierungsprodukt wurde in einer Porzellanreibschale mit dem Säuregemisch durchgeknetet, wobei es in ein festen Zustand überging. Nachdem es mit Eiswasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen worden war, wurde es auf Ton getrocknet und durch Umkrystallisieren aus Alkohol gereinigt. Das Gallisin gab so ein weißes, lockeres Nitrierungsprodukt, das aus Methylalkohol nochmals umkrystallisiert in kleinen Kryställchen erhalten werden konnte. Die Ausbeute betrug 3,5 g Nitrat aus 5 g Gallisin. Da das Produkt keinen einheitlichen Schmelzpunkt zeigte, handelte es sich offenbar um ein Gemisch. Die Substanz sinterte bei 60° zusammen und schmolz bei 110° unter Zersetzung zu einer klaren Flüssigkeit. Das aus Methylalkohol nochmals gereinigte Produkt sinterte ebenfalls bei 60° und schmolz bei 105°.

Löslichkeit: Das Produkt war unlöslich in Benzol, schwer löslich in Wasser, leichter löslich in Alkohol und Essigsäureäthylester, sehr leicht löslich in Äther, Aceton und Eisessig. Aus der Acetonlösung war es durch Wasser als sirupöse Masse ausscheidbar.

Die Substanz reduzierte Fehling'sche Lösung, wurde aber dabei anscheinend zersetzt; sie löst und vermischt sich nicht mit Natronlauge, sondern wird teigartig. Natronlauge wirkt auf das Produkt zersetzend ein unter Gelbfärbung; die Lösung selbst wird braun. Im Exsiccator zersetzt es sich unter Abgabe von Stickoxyden, die durch den Geruch wahrnehmbar sind; es ist dann unlöslich in Wasser und nimmt nur eine teigartige Beschaffenheit an.

Ein Schluß auf die Natur des Produktes durch Vergleich mit dem der Maltose ergab sich nicht.

b) Verbindungen mit Benzoylchlorid.

Die Kohlenhydrate geben verhältnismäßig leicht Verbindungen mit dem sehr reaktionsfähigen Benzoylchlorid. Panormoff[2]) gab für die Herstellung solcher Verbindungen eine allgemeine Vorschrift und beschrieb bei dieser Gelegenheit ein Heptaderivat der Maltose.

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1898, **31**, 68.
[2]) Chem. Zentralbl. 1891, II, 854.

Skraup[1]) führte für die Reindarstellung von Glykosebenzoaten eine abgeänderte Baumann'sche Verschrift an, wobei er die letzten Reste des Benzoylchlorids aus dem Reaktionsprodukt durch eine Wasserdampfdestillation als Benzoesäureäthylester entfernte.

Bei der Darstellung der Benzoate wurde an der von Panormoff angegebenen Methode festgehalten: 1 Teil Substanz, 6 Teile Benzoylchlorid und 48 Teile 18—20%-ige Natronlauge wurden gemischt und diese Mischung unter Kühlung mit Eiswasser etwa 1 Stunde lang in einem Kolben gut durchgeschüttelt. Nach ungefähr 20 Minuten fing die Abscheidung einer zähen, klebrigen Masse an, die immer einen Stich ins Gelbe besaß. Tags darauf wurde der Niederschlag auf der Nutsche nach vorherigem Verdünnen der Lösung mit Wasser abgesaugt und gut mit Wasser gewaschen; durch Umlösung aus 96%-igem Alkohol konnte das Produkt rein weiß und völlig amorph erhalten werden. Durch das längere Stehenlassen band die Natronlauge das Benzoylchlorid meist so vollständig, daß kein Geruch mehr wahrnehmbar war. Die Wasserdampfdestillation konnte daher in Wegfall kommen.

Als bestes Mittel zur Reindarstellung der Benzoate, Chlorbenzoate und Benzolsulfochloridverbindungen erwies sich in der Folge der Eisessig. Die Verbindungen wurden in heißem Eisessig gelöst, die Lösung etwas erkalten lassen und dann unter Umrühren in Wasser eingegossen. Die Reaktionsprodukte schieden sich so rein weiß amorph ab und sammelten sich nach einiger Zeit an der Oberfläche an. Das Filtrieren geschah durch einen Brunk'schen Tiegel, wodurch verhindert wurde, daß durch das oftmalige Auswaschen mit Wasser zur Entfernung des Eisessigs die Substanz durch Filterfasern verunreinigt wurde. Nun folgte ein Trocknen der Substanz auf Ton im Exiccator und dann im Vakuumtrockenschranke.

Das Gallisin gab mit Benzoylchlorid ein weißes, amorphes Benzoat, das fast genau den Schmelzpunkt des Maltoseheptabenzoats besaß. Die Ausbeute war ziemlich gering; sie betrug 2 g Benzoat aus 10 g Gallisin. Um einen Vergleich mit dem Derivat der Maltose anstellen zu können, wurde von reiner Maltose nach der zuerst eingehaltenen Methode das Heptaprodukt dargestellt. Der Vergleich des Schmelzpunktes und der Löslichkeitsverhältnisse ergab mit der darauffolgenden Elementaranalyse die Idendität des aus dem Gallisin erhaltenen Benzoates mit dem Maltoseheptabenzoat.

Das Maltosebenzoat sinterte bei 117° und schmolz bei 120°; das Gallisinbenzoat sinterte bei 115°, schmolz bei 120° und war klar geschmolzen bei 132°.

In Wasser war das Gallisinbenzoat auch beim Erhitzen nicht löslich; es ballte sich zusammen und schwamm oben, ohne sich zu benetzen. In 96%-igem Alkohol war es kalt unlöslich, heiß löslich; in Äther und Eisessig war es leicht löslich, in Aceton, Benzol, Essigester sehr leicht löslich; in Methylalkohol selbst in der Hitze nicht löslich. Von verdünnter Natronlauge war es beim Kochen schwer angreifbar.

Diese sämtlichen Löslichkeitsverhältnisse gelten auch für das Maltosebenzoat.

Zum Vergleich mit dem Benzoat des Gallisins wurde das aus etwa 90%-iger Maltose erhaltene, bei 120° schmelzende Heptabenzoat $C_{12}H_{15}(C_7H_5O)_7O_{11}$ analysiert.

Die Elementaranalysen ergaben folgendes:

0,2017 g	Maltoseheptabenzoat gaben	0,5055 g	Kohlensäure	und 0,0854 g	Wasser
0,1470 g	Gallisinbenzoat, dargestellt ohne Wasserdampfdestillation, gaben	0,3642 g	„	„ 0,0644 g	„
0,1305 g		0,3265 g	„	„ 0,0597 g	

[1]) Monatshefte f. Chemie 1889, **10**, 399.

Demnach:	Gefunden:		Berechnet für Maltoseheptabenzoat	
	Kohlenstoff	Wasserstoff	Kohlenstoff	Wasserstoff
Gallisinheptabenzoat .	67,57; 68,23 %	4,99; 5,12 %	68,37 %	4,71 %
Maltoseheptabenzoat .	68,35 %	4,74 %		

An dieser Stelle sei auf eine spätere Erklärung (S. 285) der bedeutenden Differenz bei dem Kohlenstoffwerte der einen Analyse hingewiesen.

Aus diesen Ergebnissen und den sehr geringen Ausbeuten bei der Herstellung des Gallisinbenzoates darf gefolgert werden, daß das Gallisin ein Gemisch darstellt, dessen geringerer Teil Maltose ist. Der zweite Bestandteil scheint mit Benzoylchlorid schwerer isolierbare Verbindungen zu geben. Diese Verhältnisse bedürfen noch der Klärung, was dann nicht schwer sein wird, wenn es gelingen sollte, den zweiten Bestandteil für sich zu erhalten. Beizufügen ist noch, daß bei der Darstellung der Benzoate auch vom unvergorenen Sirup, aus dem das Gallisin noch nicht mit dem Gemisch von absolutem Alkohol und Äther ausgefällt ist, ausgegangen werden konnte bei der Erzielung desselben Endergebnisses.

Die Analyse der Benzoate wurde auch durch Verseifung zu erreichen gesucht. Die angestellten Versuche verliefen aber ergebnislos, da die Verbindungen durch achtstündiges Kochen mit $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure am Rückflußkühler durchaus nicht verändert wurden. Durch Titration mit $^1/_{10}$ N.-Natronlauge hätte die Zahl der eingetretenen Benzoesäuregruppen bestimmt werden können. Eine Verseifung mit Natronlauge war wegen der Empfindlichkeit des Zuckers gegen starkes Alkali von vorneherein ziemlich aussichtslos.

Nun wurde zur Darstellung von Verbindungen mit p-Chlorbenzoylchlorid und mit Benzolsulfochlorid übergegangen; bei diesen Körpern konnte durch eine Chlor- bezw. Schwefelbestimmung auf die Zahl der eingetretenen Chlorbenzoesäure- bezw. Benzolsulfosäuregruppen geschlossen werden.

c) Verbindungen mit p-Chlorbenzoylchlorid.

Das p-Chlorbenzoylchlorid wurde aus p-Toluidin dargestellt; es ist eine farblose Flüssigkeit von benzoylchloridähnlichem Geruch, die an der Luft raucht, bei 220 bis 222° siedet und deren Dämpfe die Atmungsorgane äußerst heftig angreifen.

1. Veresterung des Gallisins selbst. Die Darstellung der Verbindungen erfolgte analog wie beim Benzoylchlorid in alkalischer Lösung unter zeitweiser Kühlung und Umschütteln. Das p-Chlorbenzoylchlorid reagierte verhältnismäßig rasch mit dem Gallisin unter Abscheidung eines weißen, amorphen p-Chlorbenzoates. Die Reingewinnung des Produktes geschah nach dem Abnutschen und gutem Auswaschen wiederum durch Umlösen aus Eisessig unter den bekannten Bedingungen. Dem Waschwasser (zur Entfernung des Eisessigs) kann nötigenfalls etwas Ammoniak zugesetzt werden. Getrocknet wurde wieder auf Ton und dann im Vakuumtrockenschranke. Dabei darf die Temperatur nicht über 80° steigen, da sonst das Derivat schmilzt. Bei Anwesenheit eines genügenden Überschusses an Alkali und einigem Stehen konnte eine Wasserdampfdestillation umgangen werden.

Angewendet wurden 3 g Gallisin, 10 g Wasser, zuerst 3 g, dann noch 1 g p-Chlorbenzoylchlorid, 60 g 20%-ige Natronlauge und 3 g festes Ätznatron. Die spätere Zugabe von 1 g Chlorbenzoylchlorid war überflüssig; das feste Ätznatron schien

die Abscheidung des Reaktionsproduktes günstig zu beeinflussen; die Ausbeuten waren im ganzen ziemlich gering.

2. Direkte Veresterung des Hauptsirups A. Es wurden Versuche angestellt, die p-Chlorbenzoate auch aus dem Sirup zu erhalten. Hierbei zeigte sich, daß bei Verwendung des Ausgangssirups dieselben Abscheidungsprodukte erhalten werden können wie beim Gallisin selbst. Schon nach einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten erfolgte eine Fällung, welche nach der vorher angegebenen Methode gereinigt wurde.

Angewendet wurden 10 g Sirup, 10 g Wasser, 9 g Chlorbenzoylchlorid, 160 g 20%-ige Natronlauge und 3 g festes Ätznatron.

Das erhaltene p-Chlorbenzoat begann bei 95° zu schmelzen und war bei 103° vollständig geschmolzen.

Die Analyse ergab:

1. Chlorbestimmung nach Carius.

0,1234 g Substanz gaben 0,0974 g Chlorsilber = 19,52 % Chlor.

2. Elementaranalyse.

0,1210 g Substanz gaben 0,2470 g Kohlensäure und 0,0368 g Wasser; daraus berechnen sich 55,67 % Kohlenstoff und 3,40 % Wasserstoff.

Es würde verlangen ein	Kohlenstoff	Wasserstoff	Chlor
Heptaderivat $[C_{12}H_{15}(C_6H_4ClCO)_7O_{11}]$ . .	55,81 %	3,28 %	18,92 %
Octoderivat $[C_{12}H_{14}(C_6H_4ClCO)_8O_{11}]$ . .	56,27 „	3,17 „	19,56 „

Da mit Benzoylchlorid ein Heptaprodukt erhalten wurde, so ist wohl anzunehmen, daß auch hier ein solches vorliegt. Die Chlorbestimmung allein würde für ein Oktoderivat sprechen; zu berücksichtigen ist dabei aber daß bei den Chlorbestimmungen nach Carius der Chlorgehalt manchmal zu hoch gefunden wird.

d) Verbindungen mit Benzolsulfochlorid.

Die Darstellung des Benzolsulfochlorids geschah nach dem von Gattermann angegebenen Verfahren; nur schloß sich zur Reingewinnung der Verbindung eine Vakuumdestillation an. Das Benzolsulfochlorid wurde so als eine farblose Flüssigkeit von unangenehmem, charakteristischem Geruch und einem Siedepunkt von 130° bei 20 mm Druck erhalten.

Die Benzolsulfosäureester wurden nach der Schotten-Baumann'schen Methode dargestellt und bildeten sich ziemlich leicht. Etwas schwieriger war es, feste Körper zu erhalten, da das Reaktionsprodukt schmierig, klebrig und zäh war. Doch konnten nach einigem Stehen feste oder fast feste Verbindungen erzielt werden, die nach der schon angegebenen Methode aus Eisessig rein erhalten wurden. Krystalle ließen sich nie erzielen, sondern immer nur weiße, vollkommen amorphe, flockige Körper, die wieder wie früher getrocknet wurden. Beim Eingießen der Eisessiglösung in Wasser wurde das Produkt flockig und sammelte sich an der Oberfläche an. Einmal kam es vor, daß geringe Mengen des Benzolsulfochlorids hartnäckig fest gehalten wurden; sie waren aber leicht durch Behandlung des Esters mit Alkohol zu entfernen (Kneten mit dem Lösungsmittel in einer Reibschale).

Ausführung der Veresterung: Das Reaktionsgemisch wurde unter zeitweiliger Kühlung mit kaltem Wasser in einem geräumigen Kolben 1/4 Stunde lang

kräftig geschüttelt, das Abscheidungsprodukt abgesaugt, gewaschen, in Eisessig gelöst und durch Eingießen in Wasser wieder ausgefällt, wiederum abgesaugt (Brunck'scher Tiegel), gründlich ausgewaschen, dann auf Ton im Vakuumexsiccator und hernach im Vakuumtrockenschrank bei niederer Temperatur getrocknet.

Am besten geschieht die Veresterung so, daß man zwei Ausschüttelungen mit Benzolsulfochlorid macht, die zweite im Filtrat der ersten. Die Ausbeuten waren gering; festes Alkali schien die Abscheidung zu befördern.

Veresterung des Sirups: Angewendet wurden 10 g Sirup, 20 g Wasser, 20 g 20%-ige Natronlauge, 5 g, dann noch 2 g Benzolsulfochlorid und 5 g festes Ätznatron. An den Wandungen des Gefäßes schied sich schon nach 5 Minuten eine Haut des Esters ab; die Schütteldauer betrug $^1/_4$ Stunde. Nun wurde abgesaugt, zum Filtrat wurden weitere 2 g Reagens und 5 g festes Ätznatron gegeben und nochmals $^1/_4$ Stunde geschüttelt; es trat dabei eine weitere Abscheidung ein.

Bei der Schmelzpunktsbestimmung erweichte die ganze Masse bei 76°, sie schmolz dann und zersetzte sich bei 125°.

Die Schwefelbestimmung, ausgeführt durch Oxydation mit Natriumsuperoxyd im Nickeltiegel und darauffolgende Bestimmung der Schwefelsäure mit Chlorbarium, ergab aus 0,1762 g Substanz 0,1843 g Bariumsulfat, entsprechend 14,36% Schwefel.

Ein Disaccharid mit vier Säureresten $[C_{12}H_{18}(C_6H_5SO_2)_4O_{11}]$ verlangt: 14,19%, ein solches mit fünf Säureresten $[C_{12}H_{17}(C_6H_5SO_2)_5O_{11}]$ 15,36% Schwefel. Es liegt also die Verbindung mit vier Säureresten vor.

Damit fanden die Veresterungsversuche einstweilen ihren Abschluß. Es würde von Interesse sein, Verseifungsversuche mit Bariumalkoholat zur Darstellung des freien Kohlenhydrats auszuführen; ebenso wäre vielleicht auch die Darstellung von p-Chlorbenzoesäureestern und von Benzolsulfosäureestern der Maltose zum Vergleiche interessant gewesen. Weitere Versuche müßten die Isolierung des zweiten Bestandteiles des Gallisins zum Ziel haben.

Wiederholte Vergärung des Hauptsirups A.

Falls der unvergorene Anteil des Stärkezuckers, wie er im Versuch I erhalten wurde, zum geringeren Teil aus Maltose bestand, so durfte angenommen werden, daß durch eine oder mehrere neue Gärungen diese vollständig weggenommen werden konnte. Es wurden daher 100 g des Hauptsirups A fünf aufeinander folgenden Vergärungen mit je 20 g Bierpreßhefe im Thermostaten bei 26° unterworfen. Die beiden ersten Gärungen verliefen, nach der Kohlensäureentwickelung zu schließen, ziemlich lebhaft, während schon die dritte Gärung rasch zu Ende war und nicht mehr so lebhaft vor sich ging. Nach jeder Gärung wurde die vergorene Flüssigkeit filtriert, mit Calciumcarbonat versetzt und im Vakuum auf dem Wasserbade eingedampft, mit etwas Wasser aufgenommen, auf 200 ccm gebracht und die Konzentration nach Baumé bestimmt. Zur Verdünnung diente immer Brunnenwasser. Um feststellen zu können, ob neuerdings noch Substanz vergoren war, wurden immer mit je 10 ccm der Lösung, 2 g Hefe und 10 ccm Brunnenwasser eine quantitative Gärung im Gärkölbchen nach Lintner ausgeführt. Die Gärdauer für die Hauptgärungen betrug je 3 Stunden. Die Konzentration betrug nach der

	ersten	zweiten	dritten	vierten Gärung
Grade Bé.	11,5°	8,0°	6,2°	5,0°

Nachdem bei der 5. Gärung nur mehr schwache Gärungsanzeichen aufgetreten waren, wurden die Vergärungen beendigt. Aus der so erhaltenen vergorenen Flüssigkeit wurden nun die Eiweißsubstanzen mit Bleiessig gefällt, das überschüssige Blei mit Natriumsulfat entfernt und das Osazon dargestellt, welches von gelbbrauner Farbe war; es schmolz bei 110° und zersetzte sich unter Aufschäumen bei 134°.

Um nun einen Schluß auf die Zusammensetzung des noch unvergorenen oder überhaupt unvergärbaren Kohlenhydrats ziehen zu können, wurde von dem Osazon eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ausgeführt.

0,0715 g Substanz ergaben 7,60 ccm Stickstoff bei 15,5° und 715 mm, demnach 10,93% Stickstoff. Das Osazon eines Kohlenhydrats von der Disaccharidformel verlangt 10,77% Stickstoff.

Aus diesem Ergebnis darf gefolgert werden, daß es sich auch bei dem Hauptbestandteil des Gallisins um ein Kohlenhydrat von der Disaccharidformel handelt. Dieser Hauptbestandteil könnte vielleicht so isoliert werden, daß nach dem vollständigen Entfernen der Maltose aus dem unvergorenen Sirup durch Gärung, dieser nach Schmitt und Cobenzl durch Ausfällen mit dem Alkohol-Äthergemisch erhalten wird.

Verseifungsversuche bei dem aus dem Gallisin erhaltenen Benzoat mit Bariumalkoholat.

Die von Fischer[1]) angegebene Verseifungsmethode für Benzoate von Kohlenhydraten führte, auf das aus dem Gallisin erhaltene Benzoat angewendet, zu keinem Ergebnis. Es trat eine vollständige Verschmierung, anscheinend ohne Verseifung der Substanz, ein.

Versuche, aus dem Hauptsirup A durch Fällen mit Äthyl- und Methylalkohol ein reines, maltosefreies Produkt zu erhalten.

Der Sirup wurde zuerst mit Methyl-, dann mit Äthylalkohol am Rückflußkühler ausgekocht und aus dem Abdampfrückstand der Extraktionsflüssigkeit das Osazon dargestellt. Dieses schmolz bei 95° und zersetzte sich bei 110° unter Aufschäumen. Es war also eine maltosefreie Substanz in den Alkohol übergegangen.

Der zurückbleibende Sirup wurde in Wasser zu einer 21° Balling zeigenden Flüssigkeit gelöst und damit die Ausfällungsversuche angestellt:

Je 50 ccm der Lösung wurden mit je 80 ccm Äthyl- bezw. Methylalkohol versetzt und diese Lösung in je 400 ccm gleichen Alkohols unter Umrühren eingetragen. Bei Anwendung von Methylalkohol wurde ein flockiger, sich zu Boden setzender Niederschlag erhalten, der aber mit der gesuchten Substanz nichts zu tun hatte, sondern unorganischer Natur war; bei Verwendung des Äthylalkohols trübte sich die Flüssigkeit zuerst, dann fiel ein klebriger, schmieriger Körper aus. Die Versuche, auf solche Weise zu einem brauchbaren Produkt zu kommen, waren also völlig fehlgeschlagen.

Die angewendete Substanz war durch Verdampfen des Methyl- und Äthylalkohols wieder zu gewinnen; mit ihr wurde dann nochmals eine Vergärung vorgenommen. Bei einer Konzentration von 13,5° Balling und Verwendung von 10 g Hefe dauerte sie 2 Tage. Die mit Kaolin, welcher die suspendierten Hefeteilchen mitniederriß, geklärte Lösung wurde zum Sirup verdampft und mit absolutem Alkohol ein festes Produkt ausgefällt, das mit den später erwähnten Substanzen identisch zu sein schien.

[1]) Inaugural-Dissertation Leipzig 1903.

Versuche, den Stärkezucker von dem unvergärbaren Anteil durch Extrahieren im Soxhlet-Apparat mit Äthyl-, Methylalkohol und mit Äther zu trennen, endigten mit einem negativen Ergebnisse. Die Glykose und das Gallisin gingen gleichmäßig in Lösung

II. Entfernung der Glykose durch Krystallisation.

Der Versuch, welcher mit 1 kg Stärkezucker ausgeführt wurde und als Prinzip die Entfernung der Glykose durch Krystallisation aus Alkohol hatte, führte zu keinem Ergebnis. Es wurde dabei wieder ein viel Glykose haltiger weißer zäher Sirup erhalten, der das Gallisin einschloß.

Der Sirup wurde nun mit 50 g Hefe bei einer Konzentration von 22° Balling vergoren. Die Gärdauer war 4 Tage, die Konzentration nach beendigter Gärung 5° Balling.

Ein kleiner Teil der vergorenen Flüssigkeit diente zur Herstellung des Osazons nach vorheriger Fällung mit Bleiessig und Entfernung des Bleies mit Natriumsulfat; die Kochdauer war 1 Stunde im Wasserbade. Das beim Erkalten ausfallende Osazon wurde durch viermaliges Umlösen aus heißem Wasser gereinigt; es schmolz bei 95° und zersetzte sich bei 107—110° unter Aufschäumen.

Die vergorene Flüssigkeit wurde mit Tierkohle gekocht, zum Sirup verdampft, mit Äther und dann mit Alkohol behandelt und hierauf durch Zerreiben mit Alkohol und Äther das feste Produkt gewonnen, das einen Stich ins Gelbe hatte.

Diese Substanz, welche 99,61 % Trockensubstanz und 1,20 % Asche enthielt, fand zur Elementaranalyse Verwendung.

Der Analyse voraus ging ein sehr sorgfältiges Trocknen bis zur Gewichtskonstanz im Vakuumtrockenschrank. Im Trockenschrank ohne Vakuum trat bald eine Bräunung und Zersetzung der Substanz auf.

0,2402 g Substanz lieferten 0,3343 g Kohlensäure und 0,1354 g Wasser
0,2022 „ „ „ 0,2780 „ „ „ 0,1131 „ „

Demnach:

	Gefunden:	Ein Disaccharid verlangt:
Kohlenstoff	37,95; 37,50 %	42,07 %
Wasserstoff	6,31; 6,26 „	6,49 „

Die Analysensubstanz enthielt 1,20 % Asche, welche aus Natrium- und Calciumsulfat bestand. Diese Asche war voraussichtlich die Ursache des schlechten Analysenergebnisses. Das Natriumsulfat kann in geschmolzenem Zustand etwas von der Substanz zurückhalten und am Verbrennen verhindern. Es hätte aber auch schon eine minimale Zersetzung der Analysensubstanz eingetreten sein können; das mehrmalige Eindampfen dürfte dieselbe herbeigeführt haben. Der mit absolutem Alkohol und Äther ausgefällte Körper löste sich in Wasser unter schwacher Gelbfärbung; auch die Vornahme sämtlicher Konzentrationen auf dem Wasserbade unter Verwendung des Vakuums führte zu keinem besseren Ergebnis. Es blieb also nur mehr die Analyse von Derivaten übrig, um auf die Zusammensetzung der Substanz selbst einen Schluß ziehen zu können. Die Verbindungen mit Phenylhydrazin und zwar die Osazone eigneten sich dazu am besten.

III. Zweiter Gärversuch.

Um neue Mengen schwer vergärbarer Substanz zu erhalten, mußte eine weitere Gärung angestellt werden.

Eine Lösung von 4 kg Stärkezucker in 12 l Brunnenwasser wurde mit 500 g Getreidepreßhefe (Oberhefe) vergoren. Die Konzentration vor der Gärung war 21° Balling, die Gärdauer betrug 78 Stunden; nach dieser Zeit zeigte die vergorene Flüssigkeit 3° Balling. Der Klärung mit Kaolin folgte das Filtrieren und Konzentrieren der Lösung.

Das daraus dargestellte Osazon schmolz bei 110°. Beim ersten Umkrystallisieren aus heißem Wasser löste sich ein geringer Teil nicht mehr. Für sich behandelt, gab er ein bei 200° schmelzendes, sich bei 210° zersetzendes Osazon von hellgelber Farbe, welches also noch Glykosazon war. Deshalb wurde eine zweite Vergärung vorgenommen und zwar wurde diesmal eine Lösung von 14,5° Bé mit 150 g Bierpreßhefe (Unterhefe) 27 Stunden lang vergoren.

Die Konzentration nach der Gärung betrug 11° Bé. oder etwa 21° Balling. Das Filtrieren geschah unter Zuhilfenahme von Kaolin und Quarzsand als Klärmittel, das Eindampfen zum Sirup auf dem Wasserbad.

Das daraus dargestellte Osazon schmolz bei 97—100° und zersetzte sich bei 112° unter Aufschäumen (langsamer erhitzt bei 120—125°).

Die Annahme, daß nach Weggärung der Glykose und der Maltose aus dem technischen Stärkezucker ein Kohlenhydrat von der Disaccharidformel vorliege, fand durch die Analyse des Osazons eine ziemlich weitgehende Bestätigung. Die Analysensubstanz war oftmals umkrystallisiert. Um ganz sicher zu gehen, wurde nicht allein eine Stickstoffbestimmung, sondern auch eine Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung des Osazons durchgeführt. Das Trocknen bis zur Gewichtskonstanz geschah im Wägeröhrchen im Vakuumtrockenschrank.

0,1217 g Substanz lieferten 0,2470 g Kohlensäure und 0,0757 g Wasser
0,1071 „ „ „ 0,2184 „ „ „ 0,0618 „ „
0,0747 „ „ „ 7,1 ccm Stickstoff bei 20,70 und 723,7 mm Druck

Demnach:

	Gefunden:	Das Osazon des Disaccharids $C_{24}H_{32}N_4O_9$ verlangt
Kohlenstoff . . .	55,35; 55,61 %	55,35 %
Wasserstoff . . .	6,96; 6,46 „	6,21 „
Stickstoff	10,31 %	10,77 „

Das analysierte Osazon ist also zweifellos das eines Kohlenhydrats von der Zusammensetzung eines Disaccharides.

Herstellung des Osons aus dem Osazon. Das Oson wurde dargestellt, um etwaige Verunreinigungen des Osazons durch die Säurebehandlung zu zerstören und andererseits um zu sehen, ob von dem Oson zu dem ursprünglichen Osazon zurückzugelangen ist.

Es wurde der von E. Fischer[1]) zur Spaltung seines Isomaltosazons angegebene Weg eingeschlagen und, wie folgt, verfahren: Das Osazon wurde mit der fünffachen Menge Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 in einer Porzellanreibschale bei Zimmertemperatur verrieben, wobei es sich mit roter Farbe löste; nach kurzer Zeit begann die Abscheidung von salzsaurem Phenylhydrazin. Das Gemisch blieb dann bei derselben Temperatur 1—1½ Stunden stehen, wobei die Farbe von Rot in Dunkelbraun umschlug. Die stark abgekühlte Mischung wurde nun auf

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1890, **23**, 3687.

Glaswolle an der Saugpumpe filtriert, mit wenig starker Salzsäure nachgewaschen das Filtrat mit der fünffachen Menge Wasser verdünnt und mit Bleicarbonat neutralisiert. Das hellgelbe Filtrat enthielt das Oson.

Aus dieser Lösung konnte mit essigsaurem Phenylhydrazin wieder ein Osazon zurückerhalten werden, das bei 97—100° sinterte, bei 120° geschmolzen war und sich bei 135—137° unter Aufschäumen zersetzte.

Das zur Herstellung des Osons angewendete Osazon schmolz bei 97—100° und zersetzte sich bei 120—125° unter Aufschäumen.

Auffällig war die Erhöhung des Schmelzpunktes; der Unterschied könnte aber auch auf Differenzen, die bei der Ausführung der Schmelzpunktsbestimmung auftreten, zurückgeführt werden.

Daß das Oson bei der Hydrolyse mit Salzsäure Glykoson und Glykose geben würde, war von vorneherein wahrscheinlich. Zur Ausführung des Versuches wurde folgendermassen verfahren: Die das Oson enthaltende Lösung wurde mit so viel starker Salzsäure versetzt, bis sie 4% der Säure enthielt, dann $^3/_4$ Stunden im Wasserbade erhitzt, abgekühlt, mit Tierkohle behandelt und vorsichtig mit Natronlauge neutralisiert. Schon in der Kälte gab die Lösung mit essigsaurem Phenylhydrazin nach einigem Stehen eine Abscheidung eines hellgelben Osazons, das bei 176—180° schmolz und sich bei 200° zersetzte; dieses Osazon war unreines Glykosazon. Nach dem Abfiltrieren des Osazons wurde nun die Flüssigkeit 1 Stunde lang im Wasserbade gekocht, wobei eine reichliche Abscheidung von Glykosazon eintrat.

Aus diesen Ergebnissen darf wohl der Schluß gezogen werden, daß das Ausgangsprodukt ein einheitliches Osazon darstellt. Wäre die Substanz ein durch Beimengungen verunreinigtes Maltosazon, so würde es sehr unwahrscheinlich sein, daß nach der Behandlung mit konzentrierter Salzsäure dasselbe Osazon wieder zurückerhalten wird. Abgesehen von den Abweichungen im Schmelzpunkt sprachen alle Anzeichen dafür, daß über das Oson dasselbe Osazon zurückerhalten wurde. Die Gewinnung von Glykosazon aus der hydrolysierten Osonlösung war ohne weiteres verständlich.

E. Fischer[1]) gibt ein Verfahren zur Herstellung des Maltosons mit Benzaldehyd an. Es war von Interesse, dieses Verfahren auch auf das aus dem unvergärbaren Anteil des technischen Stärkezuckers erhaltene Osazon zu übertragen. Das Ergebnis war aber ein ungünstiges; der Benzaldehyd, welcher sich mit der Flüssigkeit nicht mischte, schien nicht zur Wirkung zu kommen.

IV. Verhalten der schwer vergärbaren Substanz gegen Maltase und Emulsin.

a) Verhalten gegen Maltase.

Einleitend ist zu bemerken, daß die Lintner'sche Isomaltose im Gegensatz zur Fischer'schen durch die Maltase der Hefe und daher auch durch Hefeninfusion leicht und rasch in d-Glykose übergeführt wird[2]).

Die Versuche mit Maltase wurden mit Hefeauszügen angestellt, die unter ungefährer Einhaltung der von Lintner und Kröber[3]) angegebenen Vorschrift bereitet waren. Als Ausgangsprodukt diente frische Bierpreßhefe, die nach gutem Waschen

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1899, **32**, 3142.
[2]) Chem.-Ztg. 1892, **16**, Rep. 138 u. 1895, **19**, Rep. 6.
[3]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1895, **28**, 1050.

und Absaugen auf der Saugpumpe in dünner Schicht auf Glasplatten ausgebreitet und in der Wärme getrocknet wurde. Dieses vollständig trockene Hefepräparat, das ganz spröde war, diente zur Herstellung des Hefeauszuges. Ein Teil der Preßhefe wurde nach vorherigem Waschen mit 96%-igem Alkohol dazu verwendet. Die getrocknete Hefe war vorher im Mörser noch fein zerrieben worden.

Die Bedingungen für die Extraktion des Hefepulvers waren folgende: 7,5 g Hefepulver wurden mit 140 ccm Wasser in einem verkorkten Fläschchen 39 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nachdem der Auszug filtriert war, fand er, wenn auch nicht blank, Verwendung. Zum Studium der Einwirkung von Maltase wurde benutzt:

1. eine 6,5%-ige Maltoselösung zum Vergleich,

2. eine Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II (S. 279), die eine Konzentration von 11,5° Balling besaß,

3. eine Lösung desselben Sirups, die aber noch einmal vergoren war, von einer Konzentration von 10,5° Balling.

Wegen der sauren Reaktion der Lösungen des Sirups wurden sie zuerst mit Natriumbicarbonat neutralisiert.

1. Versuch mit der 6,5%-igen Maltoselösung. 50 ccm der Lösung wurden mit 20 ccm Hefenauszug versetzt und 2 Stunden im Wasserbade auf 40° gehalten; bei dieser Temperatur soll das Optimum der Einwirkung liegen. Mit der nach 2 Stunden erhaltenen Lösung wurde die Osazonprobe angestellt. Nach dem Abfiltrieren der Eiweißflocken wurde mit Bleiessig gefällt, das Blei mit Natriumsulfat entfernt, 2 ccm Phenylhydrazin und 2,5 ccm 50%-ige Essigsäure zugesetzt und 2 Stunden im Wasserbade gekocht. In der Hitze fiel ein reichlicher, hellgelb gefärbter Niederschlag von Glykosazon aus, das den Schmelzpunkt 200° besaß. Aus dem Filtrate schied sich nach dem Erkalten eine geringe Menge eines dunkler gefärbten Osazons ab, das aus heißem Wasser umgereinigt einen Schmelzpunkt von 168—170° und einen Zersetzungspunkt von 178° zeigte; dieses Osazon war Maltosazon.

Die Umwandlung von Maltose in Glykose durch die Maltase der Hefe war also bei einer Einwirkungsdauer von 2 Stunden noch nicht beendigt.

Das Fällen mit Bleiessig vor der Osazonprobe erwies sich als überflüssig, da auch direkt schöne Osazone erhalten werden konnten.

Dieser Versuch darf als Vorversuch gelten. In der Folge wurde mit kleinen Auszugsmengen gearbeitet und zwar mit je 5 ccm auf 20 ccm Zuckerlösung; die Einwirkungsdauer war wiederum 2 Stunden bei einer Temperatur von 40°. Ein Reischauer-Stern mit großen Reagensgläsern, welcher in das Wasserbad eingestellt wurde, leistete hierbei gute Dienste.

2. Versuch mit der Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II. Die Abscheidung in der Hitze war Glykosazon vom Schmelzpunkt 200° und dem Zersetzungspunkt 203°. In der Kälte schied sich aus dem Filtrat ein Osazon ab, das, einigemale umkrystallisiert, rasch erhitzt bei 95° schmolz und sich bei 117° zersetzte; beim erstmaligen Umkrystallisieren aus heißem Wasser blieb ein kleiner Teil ungelöst, der ebenfalls noch Glykosazon war.

3. Versuch mit der Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II nach nochmaliger Vergärung. Es traten dieselben Erscheinungen auf, wie sie unter 2. angegeben sind. Der Schmelzpunkt des beim Erkalten sich ausscheidenden Osazons lag bei 97°, der Zersetzungspunkt bei 117°.

Bei diesen Versuchen wurde ein Auszug aus mit Wasser gewaschener Bierpreßhefe verwendet.

Die Untersuchungen zeigen also, daß die Maltase der Hefe analog wie auf Maltose auch auf die schwer vergärbare Substanz aus dem technischen Stärkezucker einwirkt. Die Einwirkung besteht in beiden Fällen in einer Inversion des Disaccharids. Die Umwandlung war in allen drei Fällen nicht vollständig; bei den Versuchen 2 und 3 wurde das schon oft erwähnte Osazon mit dem auffällig niederen Schmelzpunkt von 97° erhalten. Vor der Einwirkung des Hefeauszuges wurde aus dem Sirup immer dieses Osazon hergestellt.

Bei den Versuchen unter Verwendung eines Auszuges aus mit 96%-igem Alkohol gewaschener Hefe waren die Bedingungen dieselben, wie bei der Versuchsreihe mit nur mit Wasser ausgezogener Hefe; beide Versuchsreihen wurden nebeneinander ausgeführt.

1. Versuch mit der 6,5%-igen Maltoselösung. In der Hitze trat keine Abscheidung ein; erst beim Erkalten wurde ein bei 170° sinterndes, bei 178—180° unter Zusetzung schmelzendes Osazon erhalten, das Maltosazon war.

2. Versuch mit der Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II. In der Hitze trat keine Abscheidung ein; das beim Erkalten sich ausscheidende Osazon schmolz bei 97—100° und zersetzte sich bei 113—117°.

3. Versuch mit der Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II nach nochmaliger Vergärung. Es waren dieselben Erscheinungen festzustellen wie unter 2; das Osazon schmolz bei 97—100° und zersetzte sich bei 120—123°.

Diese Ergebnisse zeigen, daß der Auszug aus mit 96%-igem Alkohol gewaschener Hefe kein auf Maltose und ähnliche Zucker einwirkendes Enzym mehr enthielt. Der Alkohol hatte dieses also unwirksam gemacht.

b) Verhalten gegen Emulsin.

Bekanntlich enthalten die Mandeln ziemlich erhebliche Mengen des Enzyms Emulsin, und zwar sowohl die süßen als auch die bitteren Mandeln; bei letzteren tritt noch ein Glykosid, das Amygdalin, hinzu. Um etwaige störende Einflüsse des letzteren hintanzuhalten, war es zweckmäßig, zur Herstellung des Enzyms von süßen Mandeln auszugehen.

Über die Art und Weise der Herstellung des Emulsins findet sich in dem Werke Effront's „Die Diastasen“ folgende in der Pharmacie angewandte Methode:

Die süßen Mandeln werden gereinigt, zu Pulver zerrieben und einem kräftigen Druck unterworfen, wobei das Öl ausgepreßt wird. Die Ölkuchen werden alsdann mit dem dreifachen Volumen Wasser ausgezogen, worauf man die Masse aufs neue abpreßt. Man erhält auf diese Weise eine mit Öl beladene Flüssigkeit, welche durch Stehenlassen bei einer Temperatur von 30° geklärt wird. Die obere Schicht der Flüssigkeit, welche aus Öl besteht, wird dann abgenommen und in der klaren Lösung das Enzym mit Alkohol gefällt. Den Niederschlag sammelt man auf einem Filter, wäscht mit 95%-igem Alkohol aus und trocknet im Vakuum. Auf diese Weise wird ein gelbes Pulver erzielt, das an Phosphaten und mineralischen Stoffen sehr reich ist. Vollständig trocken, kann dasselbe auf 100° erwärmt werden ohne seine Aktivität einzubüßen. Das Emulsin ist in Wasser löslich und hält sich in trockenem Zustand sehr lange.

Da es sich bei der vorliegenden Abeit lediglich um das Studim der Einwirkung

von Emulsin auf den schwer vergärbaren Anteil des Stärkezuckers handelte, war es nicht erforderlich, das Enzym mit Alkohol zu fällen, sondern es genügte die Herstellung und Verwendung von wässerigen Auszügen aus süßen Mandeln.

Folgender Weg scheint zur Herstellung wirksamer Auszüge empfehlenswert zu sein: Die süßen Mandeln werden in warmem Wasser geweicht, nach Entfernung der Schalen getrocknet und in einer Fleischhackmaschine zerkleinert. Diese Behandlung wird am besten nochmals wiederholt. Die breiige Masse wird dann in ein Preßsäckchen gegeben und in der hydraulischen Presse einem hohen Druck ausgesetzt, wodurch der größte Teil des Öles entfernt wird. Um dieses noch besser wegnehmen zu können, folgte eine Extraktion mit Äther im Soxhlet-Apparat; diese Extraktion scheint für die Haltbarkeit der Auszüge von Vorteil zu sein (es zeigte sich nämlich, daß ein trotz des Auspressens noch stark ölhaltiger Preßrückstand einen wässerigen Auszug gab, der beim Klären bei 30° über Nacht verdarb, sauer reagierte und einen saueren Geruch besaß. Der Auszug konnte Lactose nicht in Glykose und Galaktose überführen, enthielt also kein wirksames Enzym mehr). Der extrahierte Rückstand wurde nun in dünner Schicht auf einer Glasplatte ausgebreitet, getrocknet und in einer eisernen Reibschale mit dem Pistill zerrieben. Durch Ausziehen mit Wasser, Klärenlassen bei einer Temperatur von 30°, wobei sich ein geringer Bodensatz ergab, und darauffolgendes Filtrieren wurde ein emulsinhaltiger Auszug erhalten, der zu den folgenden Versuchen Verwendung fand.

Als Vergleichslösung diente eine 5%-ige Maltoselösung.

Die Wirksamkeit der emulsinhaltigen Auszüge wurde mit einer 5%-igen Lactoselösung kontrolliert. Der Auszug aus den mit Äther extrahierten Mandeln wirkte auf die Lactose ein unter Bildung von Glykose — bei der Osazonprobe trat in der Hitze eine Abscheidung von Glykosazon ein. Der Auszug aus den nicht mit Äther extrahierten Mandeln dagegen war wirkungslos.

Die Versuchsbedingungen bei der Verwendung eines Auszuges aus mit Äther extrahierten Mandeln waren immer folgende: Auf je 20 ccm der Lösung trafen 10 ccm Auszug; die Einwirkungsdauer war 22½ Stunden bei einer Temperatur von 30°.

1. 5%-ige Maltoselösung: Keine Einwirkung. Bei der Osazonprobe trat in der Hitze keine Abscheidung von Glykosazon auf; das beim Erkalten der Lösung ausfallende Osazon war Maltosazon.

2. Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II mit einer Konzentration von 11,5° Balling. Bei der Osazonprobe trat in der Hitze eine Abscheidung von Glykosazon vom Schmelzpunkt 200° ein; das aus dem Filtrat nach dem Erkalten erhaltene Osazon besaß einen Schmelzpunkt von 98° und einen Zersetzungspunkt von 119—120°. Die Umwandlung war also noch nicht vollständig gewesen.

Diese Versuche zeigten also, daß das Emulsin auf Maltose nicht einwirkt, wohl aber auf den aus dem Stärkezucker erhaltenen schwer vergärbaren Anteil unter Bildung von Glykose.

Zusammenfassend sei nochmals angeführt, daß die Hefemaltase und das Emulsin gleicherweise invertierend auf die schwer vergärbare Substanz aus dem technischen Stärkezucker einwirken; auf die Maltose dagegen ist das Emulsin ohne Wirkung.

V. Versuche, die Einheitlichkeit der Substanz aus der Hauptgärung I festzustellen.

Es wurde dabei von der Erwägung ausgegangen, daß eine schwer vergärbare Substanz, die einheitlich ist, nach jeder Gärung immer dasselbe spezifische Drehungsvermögen und dasselbe Reduktionsvermögen zeigen müsse. Die angestellten Versuche scheiterten daran, daß durch die Verwendung von je 50 g Hefe zu einer Gärung so viel Eiweißstoffe u. a. in Lösung gingen, daß die Trockensubstanz erheblich erhöht und infolgedessen die Konstanten verändert wurden.

Die mit 100 g Sirup angestellten drei Vergärungen mit je 50 g Hefe und einer Gärdauer von 20—30 Stunden zeigten, auf die Osazone hin untersucht, daß sich nach jeder Gärung dasselbe Osazon vom Schmelzpunkt 97—100° und dem Zersetzungspunkt von 125—127° erhalten ließ. Diese Tatsache darf wohl als ziemlich sicherer Beweis für die Einheitlichkeit der durch zweimalige Vergärung des Stärkezuckers erhaltenen schwer vergärbaren Substanz angeführt werden.

Versuche zur Darstellung eines β-Naphthylhydrazinderivates der schwer vergärbaren Substanz nach dem Verfahren von Rothenfußer[1]) schlugen fehl. Da nach diesem Verfahren das Ausgangsprodukt durch Alkohol gefällt wird, war das Gelingen der Versuche, solche Derivate in alkoholischer Lösung zu erhalten, von vorneherein zweifelhaft.

Das β-Naphthylhydrazin war bei diesen Versuchen nach der von Rothenfußer gegebenen Vorschrift aus β-Naphthylhydrazinchlorhydrat durch Freimachen mit Natronlauge erhalten; durch Umkrystallisieren aus Alkohol wurde die Verbindung rein gewonnen.

Es war interessant festzustellen, wie der Schmelzpunkt des Osazons der schwer vergärbaren Substanz aus der Hauptgärung I (ausgefällt durch absoluten Alkohol) durch Beimischung von Maltose verändert wird. Das Osazon des schwer vergärbaren Produkts selbst schmolz bei 97—100° und zersetzte sich bei 117—120°, das Osazon eines Gemisches von gleichen Teilen Maltose und schwer vergärbarer Substanz schmolz bei 147°, dann trat Zersetzung ein; endlich schmolz das Osazon eines Gemisches von 3 Teilen Maltose und 1 Teil schwer vergärbarer Substanz bei 170°, dann folgte Zersetzung.

B. Darstellung von Derivaten des Glykosins.

Es dürfte zweckmäßig sein, dem Vorschlage Wohl's[2]) folgend, den maltosefreien, schwer vergärbaren Teil des technischen Stärkezuckers vorerst mit dem Namen „Glykosin“ zu belegen.

Zur Gewinnung von Verbindungen des Glykosins wurden verwendet: Benzoylchlorid, p-Chlorbenzoylchlorid, m-Nitrobenzoylchlorid, Benzolsulfochlorid und p-Nitrophenylhydrazin.

Das Glykosin stammte aus dem ersten großen Gärversuch, mit Ausnahme des zur Darstellung des p-Nitrophenylosazons nötigen, das aus der Hauptgärung II stammte. Die zu Vergleichszwecken benutzte Maltose war Maltose Kahlbaum, deren Phenylosazon bei 180° sinterte, bei 190° schmolz und sich bei 195° unter Aufschäumen zersetzte.

[1]) Dissertation der Universität München 1903.

[2]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1890, **23**, 2084.

1. Veresterung mit Benzoylchlorid.

Die Ausführung geschah wiederum nach den Angaben von Panormoff[1]). Das Rohprodukt wurde bei mehrstündigem Stehen fest und konnte durch Umlösen aus Eisessig rein erhalten werden; es begann über 90° zu sintern und schmolz bei 100—102°.

Die Elementaranalyse liefert folgende Ergebnisse:

0,1719 g Substanz gaben 0,4220 g Kohlensäure und 0,0759 g Wasser.
0,1393 „ „ „ 0,3420 „ „ „ 0,0620 „ „
0,1853 „ „ „ 0,4544 „ „ „ 0,0821 „ „

Demnach:

	Gefunden:	Berechnet für das Hexaderivat $C_{12}H_{16}(C_7H_5O)_6O_{11}$
Kohlenstoff . . .	66,95; 66,96; 66,88 %	67,05 %
Wasserstoff . . .	4,94; 4,98; 4,96 „	4,80 „

Bei der Maltose entstand unter den gleichen Bedingungen ein Heptaderivat, während bei dem Glykosin das Hexaderivat als vorliegend erachtet werden darf. Eine Differenz von — 0,80% Kohlenstoff bei der Analyse des aus dem Gallisin erhaltenen Benzoats kann durch die Annahme erklärt werden, daß ein durch das Glykosin-Hexaderivat verunreinigtes Maltoseheptabenzoat zur Elementaranalyse Verwendung fand.

2. Veresterung mit p-Chlorbenzoylchlorid.

Der Ester wurde nach der schon bekannten Methode hergestellt und gereinigt; das Produkt schmolz nach vorheriger Sinterung bei 98°.

Die Elementaranalyse lieferte folgende Ergebnisse:

0,1545 g Substanz gaben 0,3126 g Kohlensäure und 0,0476 g Wasser
0,1769 „ „ „ 0,3595 „ „ „ 0,0570 „ „
0,1587 „ „ „ nach Carius 0,1141 g Chlorsilber.

Demnach:

	Gefunden	Berechnet für das Hexaderivat $C_{12}H_{16}(C_6H_4ClCO)_6O_{11}$
Kohlenstoff	55,18; 55,42 %	55,25 %
Wasserstoff	3,45; 3,61 „	3,44 „
Chlor	17,78 %	18,13 „

Auffällig ist die Übereinstimmung des Schmelzpunktes dieses Produktes mit dem früher aus dem Gallisin erhaltenen. Die Analyse desselben ließ den Schluß auf ein Heptaderivat zu. An dieser Stelle darf wohl auf die Schwierigkeit der Entscheidung, ob z. B. ein Hepta- oder Hexaderivat vorliegt, hingewiesen werden, da die Werte für Kohlenstoff, Wasserstoff und auch für Chlor nahe beieinander liegen. Für ein Heptaderivat würden sich ergeben:

55,81% Kohlenstoff 3,28% Wasserstoff 18,92% Chlor.

Zum Vergleich führte ich auch eine Veresterung von Maltose mit p-Chlorbenzoylchlorid durch. Die Mengenverhältnisse bei der Darstellung waren folgende: 3 g Maltose, 10 g Wasser, 5 g p-Chlorbenzoylchlorid und 20 g 20%-ige Natronlauge.

[1]) Chem. Zentralblatt 1891, II, 854.

Das anfangs zähe, schmierige Produkt wurde nach mehrstündigem Stehen unter Wasser vollkommen fest; es begann bei 110° zu sintern und schmolz bei 120—125°.

3. Veresterung mit m-Nitrobenzoylchlorid.

Die Veresterung wurde nach dem Lösen des Glykosins in Wasser bei Gegenwart von 8%-iger Kalilauge ausgeführt unter Zugabe des auf dem Wasserbade geschmolzenen m-Nitrobenzoylchlorids. Die Abscheidung fand rasch statt; das Produkt war fest und wurde in der bekannten Weise rein gewonnen. Die Ausbeute war gering. Die Substanz sinterte bei 120° und schmolz bei 130—132°.

Die Stickstoffbestimmungen nach Dumas lieferten folgende Ergebnisse:

0,1090 g Substanz gaben 7,9 ccm Stickstoff bei 18° und 716 mm Druck = 7,88 % Stickstoff
0,1023 „ „ „ 7,4 „ „ „ „ „ „ „ „ = 7,86 „ „

Diese auffallend hohen Stickstoffwerte würden auf ein Derivat eines Disaccharides mit 11 Nitrobenzoylchloridresten hinweisen. Eine Verbindung von der Zusammensetzung $C_{12}H_{11}(C_6H_4NO_2CO)_{11}O_{11}$ würde 7,78% Stickstoff enthalten.

Zum Vergleich sei hier ferner das Ergebnis der Veresterung der Maltose angeführt, welche unter denselben Bedingungen ausgeführt wurde. Der erhaltene Ester sinterte um 60° und schmolz bei 70—72° unter Beibehaltung der Form; bei 90—92° wurde aus der Substanz eine homogene Flüssigkeit.

Die Stickstoffbestimmung nach Dumas lieferte folgende Ergebnisse:

0,1532 g Substanz gaben 10,4 ccm Stickstoff (bei 20° und 717 mm Druck) = 7,32 % Stickstoff
0,1392 „ „ „ 9,46 „ „ („ 19° „ 719 „ „ = 7,38 „ „

Für ein Oktoderivat $C_{12}H_{14}(C_6H_4NO_2CO)_8O_{11}$ berechnen sich 7,30% Stickstoff.

Bei der Maltose hat sich also das 8 Hydroxylgruppen entsprechende Derivat ergeben. Die Frage, ob bei dem Derivat des Glykosins tatsächlich ein solches mit 11 Nitrobenzoylchloridresten angenommen werden muß, kann nicht sicher entschieden werden, da die Stickstoffwerte der verschiedenen, möglichen Verbindungen nur sehr geringe Unterschiede aufweisen.

4. Veresterung mit Benzolsulfochlorid.

Die Bedingungen der Herstellung waren die bekannten. Es war äußerst schwierig ein festes Produkt zu erhalten. Das Reaktionsprodukt wurde beim Stehenlassen nicht fest und fiel aus Eisessig zum größten Teil wiederum klebrig aus. Durch Zugabe von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure zur milchigen Flüssigkeit konnten endlich flockige Niederschläge erhalten werden. Da gleichwohl geringe Mengen des Benzolsulfochlorids der Verbindung anhafteten und es nicht gelang, diese zu entfernen, mußte von einer Analyse (Schwefelbestimmung) abgesehen werden.

Die Mengenverhältnisse bei der Darstellung waren: 1 g Glykosin aus Hauptgärung I, 2 g Benzolsulfochlorid, 10 g Wasser, 20 g 20%-ige Natronlauge; außerdem wurde festes Ätznatron zugegeben.

Der Schmelzpunkt stimmte mit dem früher aus dem Gallisin erhaltenen Produkt überein. Die Substanz erweichte durch die ganze Masse hindurch bei 76°, war bei 90° vollständig geschmolzen und zersetzte sich unter Aufschäumen bei 125—130°.

Die zum Vergleich vorgenommene Veresterung der Maltose mit Benzol-

sulfochlorid wurde durchgeführt mit 1 g Maltose, 10 g Wasser, 20 g 20%-ige Natronlauge und 2 g Benzolsulfochlorid; außerdem wurde festes Ätznatron zugegeben.

Der Ester begann bei 63° stark zu sintern, war bei 76—80° geschmolzen und zersetzte sich bei 180°. Zu beachten ist die Verschiedenheit der Schmelzpunkte der Derivate des Glykosins und der entsprechenden der Maltose.

Beim Vergleich der Derivate des Glykosins mit den früher dargestellten des Gallisins ergibt sich, daß das aus dem Gallisin erhaltene p-Chlorbenzoat- und das Benzolsulfochlorid-Derivat nach der Übereinstimmung des Schmelzpunktes anscheinend identisch mit den analogen Verbindungen des Glykosins ist.

5. Darstellung des p-Nitrophenylosazons des Glykosins.

Angeregt durch die Versuche Heyde's[1]), der u. a. ein Maltose-p-Nitrophenylosazon darstellte, wurde dazu übergegangen, zur Darstellung des Osazons an Stelle des Phenylhydrazins das p-Nitrophenylhydrazin zu verwenden. Das zur Anwendung gebrachte Glykosin stammte von der Hauptgärung II her.

Das p-Nitrophenylosazon wurde auf folgende Weise erhalten: 1 g Glykosin wurde in Eisessig unter Zusatz von etwas Wasser gelöst, mit der Lösung von 1 g p-Nitrophenylhydrazin in Eisessig versetzt und die Mischung 1/2 Stunde im Wasserbade erhitzt. Nach mehrstündigem Stehen fiel das Osazon als roter, amorpher, pulveriger Niederschlag aus, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen, auf Ton und im Vakuumtrockenschrank getrocknet wurde. Zur Reingewinnung wurde die Verbindung in Pyridin gelöst, durch Zusatz von Äther ausgefällt, mit viel Äther auf dem gehärteten Filter ausgewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und zur Analyse verwendet. Das beständige Osazon konnte auch im gewöhnlichen Trockenschrank einer Temperatur von 100—103° ausgesetzt werden.

Das schön zinnoberrot gefärbte Pulver sinterte bei 240° stark zusammen und schmolz bei 244—245° unter Zersetzung. Das Osazon zeigte auch die von Heyde angegebene Erscheinung, daß es sich auf Zusatz von Natronlauge intensiv blau färbt. Bei Zugabe von Säure trat wiederum eine rötliche Färbung auf.

Die Analyse des Osazons lieferte folgende Ergebnisse:

0,0612 g Substanz gaben 0,1059 g Kohlensäure und 0,0291 g Wasser;
0,0557 „ „ „ 6,8 ccm Stickstoff (bei 17° und 721 mm Druck)
0,0400 „ „ „ 4,9 „ „ („ 18° „ 719 „ „)

Demnach:	Gefunden:	Berechnet für das p-Nitrophenylosazon eines Disaccharids $C_{24}H_{30}N_6O_{13}$:
Kohlenstoff	47,19 %	47,19 %
Wasserstoff	5,32 „	4,95 „
Stickstoff . . .	13,42; 13,37 %	13,77 „

Die Substanz war sehr schwer verbrennbar. Zwei weitere Analysen gaben Kohlenstoffwerte von 47,01% und 46,91%.

Durch dieses Ergebnis ist sicher erwiesen, daß der Hauptbestandteil des im technischen Stärkezucker vorhandenen Gallisins eine Zuckerart von der Zusammensetzung eines Disaccharides ist.

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1899, **32**, 1810, 1815.

C. Versuche, die schwer vergärbare Substanz in Glykose überzuführen. (Inversionsversuche.)

Eine Lösung des Sirups aus der Hauptgärung II von 14,7° Balling wurde mit Salzsäure invertiert.

100 ccm der Lösung wurden mit 50 ccm einer 0,75 %-igen Salzsäure (Konzentration wie bei der Invertzuckerbestimmung) versetzt, 3/4 Stunde im Wasserbade gekocht und nach der Neutralisation mit Soda die Osazonprobe angestellt; in der Hitze trat eine erhebliche Abscheidung von Glykosazon ein; im Filtrat fiel beim Erkalten eine geringe Menge eines Osazons aus, das den Schmelzpunkt von 97° zeigte.

Die Inversion wurde nun fortgesetzt und zwar mit einer Salzsäure von höherer Konzentration. 75 ccm der mit 0,75 %-iger Salzsäure behandelten Lösung wurden mit 6 ccm 25 %-iger Salzsäure (Konzentration wie bei der Stärkebestimmung) nochmals 3/4 Stunden im Wasserbade erhitzt. Die so erhaltene Lösung war auch nur zum größten Teil invertiert; im Filtrat des Glykosazons fiel eine kleinere Menge des niedrig schmelzenden Osazons aus. Die Inversion war also nicht quantitativ verlaufen.

Der Versuch wurde nun mit Salzsäure von der zuletzt angewendeten Konzentration wiederholt:

30 ccm der letzten Lösung wurden mit 10 ccm 25 %-iger Salzsäure nochmals 3 Stunden lang invertiert. In der Hitze trat bei der Osazonprobe auffälligerweise keine Abscheidung von Glykosazon mehr auf; die Flüssigkeit blieb vielmehr vollständig klar. Erst beim Erkalten schied sich eine reichliche Menge des in Wasser leicht löslichen, niedrig schmelzenden Osazons aus.

Bei dieser höheren Konzentration der Salzsäure war also die Umwandlung des Glykosins in Glykose nicht mehr weiter vor sich gegangen, sondern es wurde die schon vorher gebildete Glykose wieder in das Glykosin übergeführt. Es war also eine Reversion eingetreten, die anscheinend verhältnismäßig leicht vor sich geht.

Aus dieser Tatsache kann geschlossen werden, daß bei der technischen Gewinnung des Stärkezuckers das Glykosin einer Reversion der schon gebildeten Glykose seine Entstehung zu verdanken hat, wie das ja auch nach den Versuchen von Wohl anzunehmen war.

Reversionsversuch mit Glykose.

Verwendet wurde Glykose von Kahlbaum.

Bei der Reversion wurde nach Scheibler und Mittelmeier[1]) verfahren: 5 g Glykose wurden mit 50 ccm 2,3 %-iger Schwefelsäure 10 Stunden im Wasserbade gekocht, die Lösung mit Calciumcarbonat neutralisiert und das Osazon dargestellt. In der Hitze fiel eine große Menge von Glykosazon aus; das beim Erkalten der Lösung sich ausscheidende Osazon wurde dreimal aus heißem Wasser umgelöst und zeigte dann bei der Bestimmung des Schmelzpunktes folgendes Verhalten: es sinterte stark bei 140°, schmolz bei 150—155° und zersetzte sich unter Aufschäumen bei 180—182°.

Nach den Angaben sollen bei diesem Versuch größere Mengen Fischer'scher Isomaltose erhalten werden. Dem Osazon nach zu urteilen, scheint unreine Maltose vorzuliegen.

Das im technischen Stärkezucker vorhandene Glykosin bildet sich demnach bei dieser Reversion nicht oder nicht allein.

---

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1891, **24**, 301.

D. Versuche, die Maltose im technischen Stärkezucker nachzuweisen.

1. Unter Anwendung einer Vergärung.

Versuch I. 100 g Stärkezucker, zu 500 ccm gelöst, wurden mit 20 g gewaschener Bierpreßhefe vergoren; die Gärdauer war 65 Stunden.

In der Flüssigkeit war Glykosazon nicht mehr nachweisbar; das beim Erkalten im Filtrat ausfallende Osazon zeigte, mehrmals aus heißem Wasser umgelöst, den Schmelzpunkt von 97—100°. Maltosazon war also nicht mehr vorhanden.

Bei einem anderen Versuche mit zweitägiger Gärdauer wurde ebenfalls das Osazon dargestellt. Neben der Hauptmenge von Glykosazon war ein kleiner Teil eines Osazons erhältlich, das bei 140° stark sinterte, über 150° schmolz und sich bei 160° unter Aufschäumen zersetzte. Dieses Osazon dürfte Maltosazon enthalten haben.

Versuch II. 100 g Stärkezucker, gelöst zu 500 ccm, wurden mit 20 g Hefe zur Gärung angestellt, deren Dauer 72 Stunden betrug, davon 48 Stunden bei Eisschranktemperatur.

Maltosazon war nicht nachweisbar, während Glykosazon noch in erheblicher Menge vorhanden war. Das im Filtrate ausfallende Osazon schmolz bei 97—100° und zersetzte sich unter Aufschäumen bei 114—115°.

Im ersten Fall war die Maltose nach der Glykose, im zweiten schon vor dem vollständigen Vergären der Glykose vergoren.

2. Ohne Anwendung einer Vergärung.

Da sich Schwierigkeiten ergaben, die Maltose mittels des Osazons im Gärrückstand nachzuweisen, wurde vom technischen Stärkezucker selbst ausgegangen.

Das Osazon des Stärkezuckers ergab nach Entfernung des Glykosazons eine geringe Menge eines in Wasser löslichen Osazons bezw. Osazongemisches, das durch mehrmaliges Umlösen aus Wasser rein erhalten wurde; es sinterte bei 97—100°, war bei 120° vollkommen gesintert und schmolz bei 155° unter Zersetzung. Aus diesem Verhalten durfte geschlossen werden, daß dem bei 97—100° schmelzenden Osazon des Glykosins Maltosazon beigemengt war.

Ein Teil des ursprünglichen Osazongemisches wurde mit Wasser ausgekocht, vom Glykosazon abfiltriert, das beim Erkalten ausfallende Osazon mit Aceton verrieben und das Gelöste durch Eindampfen der Acetonlösung gewonnen. Das so erhaltene Osazon begann bei 97—100° zu sintern und schmolz vollständig unter Zersetzung bei 175—178°. Dieses Osazon war als unreines Maltosazon anzusehen. Neben dem Glykosin wäre demnach Maltose im Gallisin vorhanden.

3. Vergärung eines Gemisches von Maltose und Glykosin.

Um zu zeigen, daß Maltose aus einem Gemisch mit schwer vergärbarer Substanz leicht zu entfernen ist, wurde ein Gärversuch mit einem Gemisch von Maltose und Glykosin angestellt. 2 g Maltose und 2 g Glykosin wurden zu 100 ccm gelöst und 75 ccm davon zur Gärung mit 3 g Hefe angesetzt; die Gärdauer war 39 Stunden. Von den übrigen 25 ccm wurde das Osazon dargestellt und nach dreimaligem Umlösen aus Wasser der Schmelzpunkt bestimmt. Die Substanz sinterte bei 120°, war bei 155° geschmolzen und zersetzte sich bei 165° unter Aufschäumen.

Die vergorene Flüssigkeit wurde filtriert und direkt das Osazon dargestellt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren schmolz es bei 97° und zersetzte sich bei 130°. Die Maltose war also aus dem Gemisch vollständig weggegoren.

E. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1. Der schwer vergärbare Anteil des technischen Stärkezuckers besteht außer geringen Mengen Maltose aus einem neuen Kohlenhydrat, das die Zusammensetzung eines Disaccharides besitzt. Wirkliche Dextrine sind nicht auffindbar. Dieses Kohlenhydrat, vorerst noch kurz „Glykosin" genannt, darf wohl als Isomeres der Maltose angesprochen werden, da es bei Hydrolyse nur Glykose liefert.

2. Das Glykosin ist ein amorpher Körper, der aus dem vollständig vergorenen Stärkezucker als strengflüssiger, zäher Sirup erhalten wird; durch Behandlung mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und Äther kann er als lockeres, weißes oder gelblich weißes Pulver gewonnen werden, das von der Darstellung her viel Alkohol und Äther einschließt. Hauptsächlich durch den Alkoholgehalt ist es so hygroskopisch, daß es an der Luft nach einiger Zeit zu einem Sirup zerfließt. Die Verbindung wird nie frei von Asche und allem Anschein nach auch nie vollkommen unzersetzt erhalten. Durch Bierpreßhefe wird das Glykosin vergoren, wenn auch sehr langsam. Die Reduktion der durch vielstündiges Erhitzen im Vakuumtrockenschrank vollkommen frei von Alkohol und Äther gemachten Substanz war 66,70 % (als Maltose berechnet), das spezifische Drehungsvermögen rund 100^0 (beide Werte bezogen auf den aschefreien Körper). Sowohl Hefemaltase als auch Emulsin wirken auf das Glykosin ein unter Bildung von Glykose. Mineralsäuren und Oxalsäure spalten es ebenfalls in Glykose; bei höherer Konzentration der ersteren geht die Inversion nicht weiter vor sich, sondern es tritt eine Reversion ein.

3. Es gelang, verschiedene Verbindungen des Glykosins darzustellen und sie durch die Analyse als Derivate eines Disaccharides zu kennzeichnen.

a) Das Phenylosazon des Glykosins entsteht leicht und kann durch mehrmaliges Umlösen aus heißem Wasser rein erhalten werden. Es ist von rotbrauner Farbe, anscheinend krystallinisch, in heißem Wasser und in Alkohol leicht löslich und besitzt den Schmelzpunkt 97—100^0 und den Zersetzungspunkt 112^0 (auch 117^0, 120 bis 125^0, 130^0 je nach der Art des Erhitzens). In alkoholischer Lösung dreht es schwach nach rechts. Durch Behandlung mit konzentrierter Salzsäure entsteht daraus das Oson, aus welchem mit Phenylhydrazin wieder das Osazon zurückgewonnen werden kann.

b) Das p-Nitrophenylosazon des Glykosins ist in eisessigsaurer Lösung als ein zinnoberrotes, amorphes Pulver vom Schmelzpunkt 240^0 und dem Zersetzungspunkt 244—245^0 dargestellt worden. Mit Natronlauge übergossen, nimmt es eine blaue Färbung an.

c) Mit Benzoylchlorid, p-Chlorbenzoylchlorid, m-Nitrobenzoylchlorid und mit Benzolsulfochlorid gibt das Glykosin amorphe Ester, deren Schmelzpunkte und Zusammensetzung festgestellt wurden. Nicht unerwähnt bleiben dürfen die Schwierigkeiten, mit denen die Darstellung und besonders die Reingewinnung dieser Verbindungen verknüpft ist. Die Ester entstanden manchmal schwer, bildeten zähe Massen, die häufig nicht fest wurden und beim Umlösen aus Eisessig wieder als klebrige, milchige Produkte ausfielen. Bei den Benzolsulfochloridverbindungen waren einigemal kleine Mengen Reagens unter keinen Umständen aus dem Ester zu entfernen.

4. Seine Entstehung verdankt das Glykosin der Einwirkung von Säure bei der technischen Gewinnung des Stärkezuckers auf bereits gebildete Glykose.